



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького
Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies

doi:10.15421/nvlvet8208

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

<http://nvlvet.com.ua/>

УДК 619:576 807

До методики приготування лініменту на основі тіопохідної тріазолу та його оцінка за фізичними властивостями і дією на окремі мікроорганізми та грибки

В.П. Мартинишин¹, В.М. Гунчак¹, Б.В. Гутий¹, О.С. Глух²
doctorvetlviv@ukr.net

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, Львів, 79010, Україна;

²Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет»,
вул. Підгірна, 46, м. Ужгород, 88000, Україна

В статті подається методика приготування лініменту за типом олійного розчину на основі тіопохідної тріазолу. З метою встановлення ступеня розчинності досліджуваної речовини в олії розторопші плямистої, інших фізичних властивостей (здатність до розширювання, гідрофільність) та протимікробної і протигрибкової дії виготовлялись 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15% концентрації лікарської форми. Для приготування нелеткого олійного розчину використовувалася класична технологія із завантаженням розчинника у порядку зростання в'язкості або щільності. У сухі флакони поміщали зважену на аналітичних вагах відповідну наважку діючої субстанції (ПКР-246) і до неї заливали розраховану масою олію розторопші плямистої. Для забезпечення швидшого розчинення хімічної сполуки в олії флакон нагрівали у водяній бані (40–50 °C). Встановлено, що новосинтезована сполука є добре розчинною в олії розторопші в 1,3,5 і 7% концентрації. Отримані розчини відзначались прозорістю, відсутністю осаду і каламуті. Критичною межею розчинності став 10% розчин. За помірної розчинності і легкого помутніння для таких розчинів характерною була незначна кристалізація, що зникала в продовж 10–15 хвилин при нагріванні у водяній бані (18–20 °C). За більш високої концентрації (12 і 15%) досліджувана хімічна сполука виявилась малорозчинною і нерозчинною, випадала в осад та кристалізувалась. 1, 3, 5 і 7% концентрації розчину відзначались стійкістю до розширювання. Для 10% розчинів досліджуваної лікарської форми характерним було незначне розширювання з ознаками кристалізації на межі. Сорбуюча здатність олійних розчинів незначна і припиняється через 2 години. За оцінкою впливу новоствореного лікувального засобу на мікроорганізми і грибки відзначено згубний вплив на *S. aureus* та *C. albicans* і *A. niger*, що дає підстави для проведення доклінічних досліджень на лабораторних тваринах саме із 7 і 10% розчинами такої концентрації.

Ключові слова: тіопохідні тріазолу, лінімент (олійний розчин), олія розторопші, фізичні властивості, протимікробна і протигрибкова активність.

К методике приготовления линимента на основе тиопохидной триазола и его оценка по физическим свойствам и действию на отдельные микроорганизмы и грибки

В.П. Мартинишин¹, В.М. Гунчак¹, Б.В. Гутий¹, О.С. Глух²
doctorvetlviv@ukr.net

¹Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина;

²Государственное высшее учебное заведение «Ужгородский национальный университет»,

Citation:

Martynyshyn, V.P., Gunchak, V.M., Gutij, B.V., Hlukh, O.S. (2017). To the method of preparation of the liniment on the basis of thiopropyl triazole and his assessment of physical properties and performance on individual microorganisms and fungi. *Scientific Messenger LNUVMB*, 19(82), 36–40.

ул. Подгорная, 46, г. Ужгород, 88000, Украина

В статье подается методика приготовления линимента по типу масляного раствора на основе тиопропильной триазола. С целью установления степени растворимости исследуемого вещества в масле розторопши пятнистой, других физических свойств (способность к расслоению, гидрофильность) и противомикробного и противогрибкового действия изготовлялись 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15% концентрации врачебной формы. Для приготовления нелетучего масляного раствора использовалась классическая технология с загрузкой растворителя в порядке роста вязкости или плотности. В сухие флаконы помещали взвешенную на аналитических весах соответствующую навашку действующей субстанции (ПКР-246) и к ней заливали рассчитанной массой масло розторопши пятнистой. Для обеспечения более быстрого растворения химического соединения в масле флакон нагревали в водяной бане (40–50 °C). Установлено, что новосинтезированное соединение хорошо растворимо в масле розторопши в 1,3,5 и 7% концентрации. Полученные растворы отмечались прозрачностью, отсутствием осадка в муте. Критической гранью растворимости оказался 10% раствор. При умеренной растворимости и легком помутнении для таких растворов характерной была незначительная кристаллизация, что исчезала на протяжении 10–15 минут при нагревании в водяной бане (18–20 °C). При высшей концентрации (12 и 15%) исследуемое химическое соединение оказалось малорастворимым и нерастворимым, выпадала в осадок и кристаллизовалась. 1,3,5 и 7% концентрация раствору отмечались стойкостью к расслоению. Для 10% растворов исследуемой врачебной формы характерным было незначительное расслоение с признаками кристаллизации на пределе. Сорбирующая способность масляных растворов незначительна и прекращается через 2 часа. По оценке влияния вновь созданного лечебного средства на микроорганизмы и грибки отмечено губительное влияние на *S. aureus* и *C. albicans* и *A. niger*, что дает основания для проведения доклинических исследований на лабораторных животных именно из 7 и 10% растворами такой концентрации.

Ключевые слова: тиопропильные триазола, линимент (масляный раствор), масло розторопши, физические свойства, противомикробная и противогрибковая активность.

To the method of preparation of the liniment on the basis of thiopropyl triazole and his assessment of physical properties and performance on individual microorganisms and fungi

V.P. Martynyshyn¹, V.M. Gunchak¹, B.V. Gutyj¹, O.S. Hlukh²
doctorvetliviv@ukr.net

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine;

²State Higher Educational Institution «Uzhhorod National University»,
Pidhirna str., 46, Uzhgorod, 88000, Ukraine

The article deals with the method of preparation of the liniment, the type of oil solution, based on thio-derivative of triazole. In order to determine the degree of the solution of the investigating substance in the Saint-Marry-thistle (*silybum marianum*) oil, other physical properties (capacity to stratification, hydrophilicity) and antimicrobial, antifungal action, the medical forms of the concentration at 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15% were made. For the preparation of non-lethal oil solution, it was used the classical technology with the loading of the solvent in the order of increasing viscosity or density. The active substance weighed on the analytical scales (PCR-246) was put in dry bottles and was filled with the calculated mass of the thistle oil. To provide faster dissolution of the chemical compound in the oil, the vial was heated in a water bath (40–50 °C). It has been established that the new-synthesized compound is well soluble in thistle oil in the forms at 1, 3, 5 and 7%. The obtained solutions were marked by transparency, lack of sediment in the haze. The critical limit of solubility was 10% solution. For moderate solubility and light clouding, such crystallization was typical for such solutions, which disappeared in 10–15 minutes on the condition of heating it in a water bath 18–20 °C. At higher concentrations (12 and 15%) the investigated chemical compound was little soluble and insoluble, precipitated (felt out in sediment) and crystallized. The concentration of the solution (1, 3, 5 and 7%) was characterized by resistance to bundle. For 10% solutions of the investigating dosage form, there was a slight stratification with signs of crystallization on the verge. Sorbent capacity of oil solutions is insignificant and stops after 2 hours. According to the assessment of the effect of the new-developed therapeutic agent on microorganisms and fungi, a deleterious effect on *S. aureus* and *C. albicans* and *A. niger* was noted, which provides the basis for preclinical studies on laboratory animals, especially with the patterns of solution at 7 and 10% concentration.

Key words: triazole, liniment (oil solution), thistle oil, physical properties, antimicrobial and antifungal activity.

Вступ

Сучасна фармацевтична галузь потребує своєчасного впровадження нових малотоксичних та високоефективних лікарських засобів нового покоління (Obushak et al., 2003; Alekseenko, 2007). Дослідження фармакологічної активності синтетичних органічних сполук, структурним фрагментом у яких є ядра гетероциклічних систем різного походження, свідчать про перспективність подібного пошуку. Відомо, що сполуки, до складу яких входять гетероатоми, виклика-

ють великий інтерес у хіміків-синтетиків, фармакологів, дослідників біологічної активності. Нітрогенвмісні сполуки широко поширені в природі та відіграють важливу роль в процесах функціонування живих організмів. Серед синтетичних біологічно активних сполук існує величезна кількість препаратів, які знайшли своє застосування як в медицині, так і у ветеринарії і в сільському господарстві, і за хімічною структурою є гетероциклічними речовинами з атомом Нітрогену. Особливу увагу серед похідних структур привертають похідні 1,2,4-тріазолу (Panasenکو, 2005;

Savchenkova, 2008). Впровадження у лікувальну практику протимікробних засобів з новими фармакологічними властивостями досягається оптимізацією лікування тварин на основі застосування відповідних лікарських форм. Ефективність залежить як від субстанції, що входить до її складу, так і від розчинника чи основи. За умов зовнішнього використання найбільш широкоживаними у практиці ветеринарної медицини є мазі та лініменти (Pertsev et al., 1994). Перевагою останніх є те, що вони не травмують грануляційної тканини, створюють абсолютний контакт з рановою поверхнею, в тому числі й за наявності «кишень», нориць чи змертвілих тканин (Panashenko, 2005). Іншими, на нашу думку, є лініменти, що виготовляються за типом розчинів на нелетких розчинниках, зокрема рослинних оліях (Hunchak et al., 2014). Наявні на ринку ветеринарних препаратів протимікробні засоби, в тому числі і у формі мазей та лініментів відзначаються тим, що не завжди стимулюють процеси регенерації тканин. А лікувальні засоби зі здатністю покращувати загоєння ран, зазвичай мають незначні антисептичні властивості (Danko, 2011; Parchenko, 2014). Тому пошук і розробка препаратів, що володіють доброю протимікробною і протигрибковою дією, оскільки часто причиною розвитку патологічних станів у тварин є поєднана контамінація мікроорганізмами і грибами, та проявляти при цьому протизапальну і ранозагоювальну дію, є надзвичайно актуальним питанням сучасної ветеринарної медицини. При створенні нового препарату з потенційно вираженою протимікробною і протигрибковою дією нами досліджувалась субстанція на основі тіопохідних триазолу (умовна назва ПКР-246), синтезовану в лабораторії кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (Parchenko et al., 2007). Як розчинник або основа для лініменту було використано олію розторопші плямистої, яка за даними літератури та власних досліджень, є не лише доброю дисперсною системою для діючих речовин, а й самостійно проявляє виражені протизапальні, мембраностабілізуючі та ранозагоювальні властивості (Leng-Perchlow, 1996; Sokol'skaja, 2002). У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчити фізичні властивості (розчинність, стійкість до розшарування, гідрофільність) та протимікробну і протигрибкову активність новосинтезованої субстанції ПКР-246 у формі лініменту.

Матеріал та методи дослідження

При приготуванні лініменту за типом нелетких олійних розчинів було використано класичну технологію. Її особливістю є застосування розчинника з найкращою розчинюючою для даної речовини здатністю. Нашими дослідженнями було встановлено, що нова синтезована сполука є розчинною в олії розторопші плямистої. Послідовність технологічних операцій щодо виготовлення такого олійного розчину принципово не відрізнялася від методології у водних розчинах. Однак з урахуванням того, що у випадках виготовлення нелетких розчинів розчинники завантажують у порядку зростання їх в'язкості або щільності,

нами для приготування розчину ПКР у олії розторопші в сухий флакон поміщалась зважена на аналітичних вагах наважка ПКР і до неї заливали розрахованою масою олію розторопші. Флакон закупорювали і нагрівали на водяній бані (t° 40–50 $^{\circ}$ C) до повного розчинення наважки досліджуваної речовини. Було враховано, що розчинення хімічних сполук у оліях проходить повільно, тому нагрівання і помішування проводили безпосередньо у флаконі для відпуску. Фільтрування таких розчинів за необхідності проводили в гарячому вигляді. Розрахунок масової частки розчинної речовини проводили за формулою:

$$\omega = \frac{m_{\text{р.р.}}}{m_{\text{р-ну}}} \times 100\%,$$

де $m_{\text{р.р.}}$ – маса розчиненої речовини, г;

$m_{\text{р-ну}}$ – маса розчину; ($m_{\text{р-ну}} = m_{\text{р.р.}} + m_{\text{р-ка}}$, де $m_{\text{р-ка}}$ – маса розчинника, г).

З метою встановлення ступеня розчинності ПКР-246 в олії розторопші та інших її фізичних властивостей і оцінки заявленої авторами новоствореної субстанції, протимікробної та протигрибкової активності нами було виготовлено наступні концентрації олійних розчинів: 1, 3, 5, 7, 10, 12 і 15%. Для визначення стійкості експериментальних варіантів розчину до розшарування нами було внесено по 10 мл олійного розчину у пробірки (по 3 пробірки на кожен варіант), зберігали їх за різного температурного режиму при кімнатній температурі (18–20 $^{\circ}$ C), у сухожарній шафі (50–60 $^{\circ}$ C) та в холодильнику (2–4 $^{\circ}$ C). Впродовж 30 діб спостерігали за розшаруванням лініменту в пробірках. Крім того, було проведено дослідження кінетики абсорбції води виготовленими олійними розчинами. Для цього наважки лікарської форми об'ємом 10 мл поміщали у целофанові пакети і переносили їх до склянок з ізотонічним розчином натрію хлориду. Кожну годину пакети діставали з розчину, просушували фільтрувальним папером і зважували на аналітичній вазі. Масу води, що абсорбована лініментами, визначали за різницею між початковою масою та за 1, 2, 3, 4 і 6 годин. Протимікробну та протигрибкову активність діючої речовини у формі лініменту досліджували методом дифузії в агар з використанням луночок.

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що новосинтезована сполука є добре розчинною в олії розторопші у 1, 3, 5 і 7% концентрації. При цьому отримані розчини відзначались прозорістю, відсутністю осаду і каламуті та були позбавлені кристалізації. Проте критичною межею розчинності стали 10% розчини. За помірної розчинності і легкого помутніння характерним для такого розчину була незначна кристалізація, що швидко (100–15 хв) зникала при нагріванні у водяній бані (t° 25 $^{\circ}$ C) (табл. 1).

Дослідженням розчинів більш високої концентрації (12 і 15%) було встановлено їх нерозчинність, непрозорість і здатність до швидкої кристалізації, що не зникає при нагріванні впродовж тривалого часу

(1 год). За оцінкою здатності олійних розчинів до розшарування з'ясовано, що досліджувані концентрації (1,3,5 і 7%) лікарської форми впродовж 30 діб розшаруванню не піддаються. Щодо 10% концентрації, то нами відзначено в пробірках незначне розша-

рування з ознаками кристалізації вже на 2–3 добу досліджень. За гідрофільністю всі досліджувані олійні розчини в малих кількостях абсорбують воду, причому лише в перші 2 години. Відтак їх сорбуюча здатність припиняється (табл. 2).

Таблиця 1

Оцінка досліджуваного лініменту за фізичними властивостями

Концентрація, %	Фізичні властивості		
	Розчинність	Прозорість	Кристалізація
1	Розчинний	Так	Немає
3	Розчинний	Так	Немає
5	Розчинний	Так	Немає
7	Розчинний	Так	Немає
10	Помірно розчинний	Легке помутніння	Незначна, що зникає при нагріванні у водянній бані (18–20 °C) впродовж 10 хвилин
12	Малорозчинний	Стійке помутніння	Виразена кристалізація, що зникає при нагріванні повільно
15	Малорозчинний	Помутніння з осадом	Повна кристалізація, що не зникає при нагріванні

Таблиця 2

Оцінка протимікробної та протигрибкової дії лініменту залежно від концентрації лікарської речовини

Концентрація, %	Зона затримки росту, мм			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
1	---	---	2,0–3,0	2,5–3,0
3	2,0–3,0	---	7,0–8,0	10,0–11,0
5	7,8–8,0	---	14,0–15,0	14,0–15,0
7	13,8–14,0	---	14,5–15,0	16,5–17,5
10	12,8–13,0	---	15,0–16,0	17,0–18,0

За оцінкою впливу новоствореного лікарського засобу на мікроорганізми і грибки встановлено, що кращий ефект на *S. aureus* досягається за використання 7 і 10% концентрації (зона затримки росту мікроорганізмів – 13–14 мм). Однак при цьому на *E. coli* препарат не діє в жодній досліджуваній концентрації. З'ясовано, що новостворена субстанція і виготовлена на її основі лікарська форма лінімент має кращу дію на грибки. Зокрема встановлено, що за 7 і 10% концентрації олійних розчинів зона затримки росту мала на *C. albicans* 14,5–16 мм, а для *A. niger* – 16,5–18 мм. Стосовно інших концентрацій відзначено також достатньо високу протигрибкову активність 5% лініментів похідної триазолу. 1 і 3% олійні розчини в цьому плані виявились менш ефективні.

Висновки

За результатами проведених досліджень встановлено, що 7 і 10% лініменти, створені на основі ново-синтезованої субстанції ПКР-246 і олії розторопші плямистої, за фізичними властивостями та протигрибковою дією відповідають вимогам до такої лікарської форми і можуть бути використані в подальших дослідженнях.

Перспектива подальших досліджень полягає у дослідженні гострої та хронічної токсичності новоствореної лікарської форми.

Бібліографічні посилання

- Alekseenko, A.L. (2007). Sintez proizvodnyh w-(azol-1-il)alkanovyh kislot i izuchenie ih biologicheskoy aktivnosti: dis. kand. him. nauk: 02.00.03. M., 198 (in Russian).
- Obushak, N.D., Matijchuk, V.S., Martjak, R.L. (2003). Sintez geterociklov na osnove produktov anionarilirovaniya nepredel'nyh soedinenij. Produkty galogenarilirovaniya akrilovoy kisloty i ee jefirov v sinteze proizvodnyh benzo[b]tiofena. Himiya geterociklich. soedinenij. 7, 1019–1026 (in Russian).
- Panasenko, O.I. (2005). Syntez, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyosti pokhidnykh 1,2,4-triazolu: dys. d-ra farm. Nauk. K., 396 (in Ukrainian).
- Savchenkova, L.V. (2008). Klinichna farmakolohiia tiotriazolinu: (ohliad lit.). Ukr. med. almanakh. 11(3), 212–217 (in Ukrainian).
- Pertsev, I.M., Datsenko, B.M., Hunko, V.H. (1994). Konstruiuvannia likarskykh system bahato spriamovanoi dii u vyhliadi mazei dlia likuvannia infikovanykh ran. Visnyk farmatsii. 1–2, 91–95 (in Ukrainian).
- Hunchak, V.M., Danko, H.V., Slobodiuk, N.M., Gutyi, B.V. (2014). Liniment dlia likuvannia tvaryn z hniinonekrotychnymy urazhenniamy shkiry. Patent na korysnu model № 94227; zaiavnyky ta patentovlasnyky Lvivskyi natsionalnyi universytet veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Hzhyskoho. Zaiavl. 31.03.2014; Opubl. 10.11.2014, Biul. № 21 (in Ukrainian).

- Danko, H.V. (2011). Membranstabilizuvalni vlastyvoli mazi, yaka mistyt oliiu plodiv roztoropshi pliamystoi. Naukovo-tekhnichnyi biuleten instytutu biolohii tvaryn, DNDKI vetpreparativ ta kormovykh dobavok. 12(3–4), 176–180 (in Ukrainian).
- Parchenko, V.V. (2014). Syntez, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyvoli v riadu 5-furyl-zamishchenykh 1,2,4-triazol-3-tioniv: dys. – doktor farmatsevtichnykh nauk. Zaporizhzhia, 361 (in Ukrainian).
- Parchenko, V.V., Panasenko, O.I., Knysh, Ye.H. (2007). Fizyko-khimichni vlastyvoli ta hostra toksychnist pokhidnykh 3-atsylalkiltio-1,2,4-triazoliv. Farmatsevtichnyi chasopys. 2(2), 41–43 (in Ukrainian).
- Sokol'skaja, T.A. (2002). Sozdanie lekarstvennykh sredstv iz plodov rastoropshi pjatnistoj (poluchenie, standartizacija i kontrol' kachestva). Farmacija. 1, 32 (in Russian).
- Leng-Perchlow, E. (1996). Properties and medical use of flavolignans (silymarin) from silybum marianum. Phytother. Res. 10, 25–26.

Received 21.09.2017

Received in revised form 25.10.2017

Accepted 30.10.2017